

DOSEAMENTO FÍSICO-QUÍMICO DO NORFLOXACINO. MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DO REATIVO DE MARQUIS*

Pedro Eduardo FRÖEHLICH**
Elfrides Eva Scherman SCHAPOVAL***

RESUMO: Utilizou-se o reativo de Marquis para a padronização de um método espectrofotométrico de doseamento do norfloxacino. O composto formado, levemente amarelo, absorve a 410 nm. Os autores analisaram também a estabilidade do composto formado, com o objetivo de fixar os limites de tempo para o ensaio. Empregou-se, como referência, o método microbiológico de difusão em ágar (cilindros em placas). O método desenvolvido mostrou-se sensível e reprodutível.

UNITERMOS: Norfloxacino; doseamento; reativo de Marquis, espectrofotometria no visível.

INTRODUÇÃO

O reativo de Marquis apresenta um grande número de reações coradas com compostos orgânicos nitrogenados. A coloração varia de acordo com a proporção de carbono, hidrogênio e nitrogênio na molécula, e com a presença de outros átomos na estrutura⁴.

Com o objetivo de propor uma metodologia físico-química alternativa para o doseamento do norfloxacino, além dos métodos já descritos na literatura^{2,3,5}, procurou-se padronizar um método espectrofotométrico, utilizando o reativo de Marquis.

Através de experimentos realizados, foi possível constatar a formação de um composto solúvel, levemente amarelado, que apresenta absorção no comprimento de onda de 410 nm.

Paralelamente, analisou-se a estabilidade do composto formado em diferentes tempos de leitura das soluções.

* Parte do trabalho de dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Farmácia no Curso de Pós-Graduação em Farmácia – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – 90610 – Porto Alegre – RS.

** Mestrando – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – 90610 – Porto Alegre – RS.

*** Departamento de Produção e controle de Medicamentos – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – 90610 – Porto Alegre – RS.

Como método de referência, avaliou-se a atividade percentual das amostras, através do método microbiológico de difusão em ágar (cilindros em placas)¹, para comparação dos resultados obtidos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Padrão

Pesou-se o equivalente a 50,0 mg de norfloxaciano e transferiu-se para um balão volumétrico (b.v.) de 100,0 ml com o auxílio de 20 ml de HCl 0,1M. Agitou-se por 15 min e completou-se o volume com água. A solução resultante contém 0,500 mg/ml de norfloxacino.

2. Amostra

A amostra foi preparada da mesma maneira que o padrão; porém, a solução final foi filtrada com papel de filtro Whatman 40.

3. Reativo de Marquis

O reativo de Marquis (9 partes de ácido sulfúrico R e 1 parte de formaldeído R, v/v) deve ser preparado no momento do ensaio.

4. Ensaio

Para a preparação da curva padrão e da amostra, seguiu-se seguinte procedimento:

Tubo	1	2	3	4	5	A	Br
Sol. Pa(ml)	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	-	-
Sol. Am(ml)	-	-	-	-	-	3,0	-
Água (ml)	7,0	6,5	6,0	5,5	5,0	6,0	9,0
Reat. Marquis (ml)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Repouso de 15 min							
Leitura em 410 nm							

Onde: Sol. Pa = solução padrão; Sol. Am = solução amostra

5. Análise da estabilidade do composto formado

Preparou-se uma curva padrão conforme descrito em 3, porém, em maior volume (100,0 ml).

Os volumes de absorção foram lidos em 15, 30, 45, 60 e 75 min.

6. Curva Padrão

Os valores das absorbâncias do padrão foram indicadas no eixo das ordenadas e as concentrações, em mg/ml, no eixo das abscissas. Cada ponto obtido no doseamento correspondeu à média de 8 determinações. A equação da reta, para a representação gráfica obtida, foi determinada através do estudo da regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados.

RESULTADOS

Os resultados do doseamento foram obtidos pela interpolação da média das absorbâncias relativas a 8 determinações, na curva padrão.

A curva padrão está representada na Figura 1, juntamente com equação da reta e o coeficiente de correlação. A Tabela 1 mostra os valores obtidos para a atividade percentual e para a concentração percentual de norfloxacin.

As curvas nos diferentes tempos de leitura, relativas ao estudo da estabilidade do composto formado, se encontram representadas na Figura 2, assim como as respectivas equações das retas e os coeficientes de correlação. As curvas I, II, III, IV e V referem-se, respectivamente aos tempos de leitura de 15, 30, 45, 60 e 75 min.

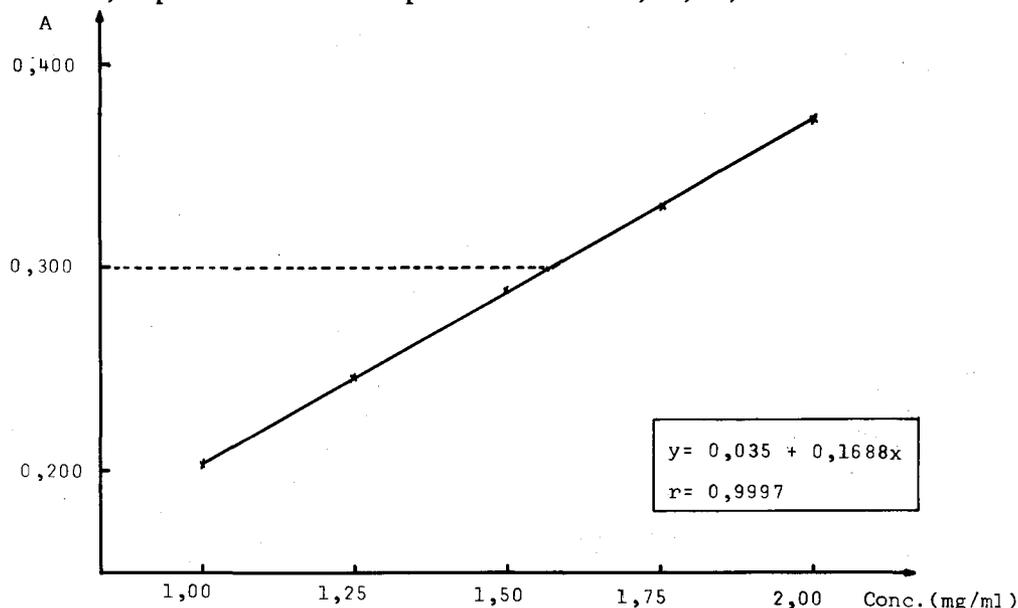


FIG. 1 - Representação gráfica da curva padrão do norfloxacin, pelo método espectrofotométrico do reativo de Marquis.

TABELA 1 – Valores obtidos para a atividade percentual (método microbiológico) e para a concentração percentual (método espectrofotométrico do reativo de Marquis)

Atividade (%)	Concentração (%)
107,43	102,44
105,40	105,90
107,22	104,16
	102,44
	105,90
	105,90
	104,16
	105,90
$\bar{x} = 106,68$	$\bar{x} = 104,60$

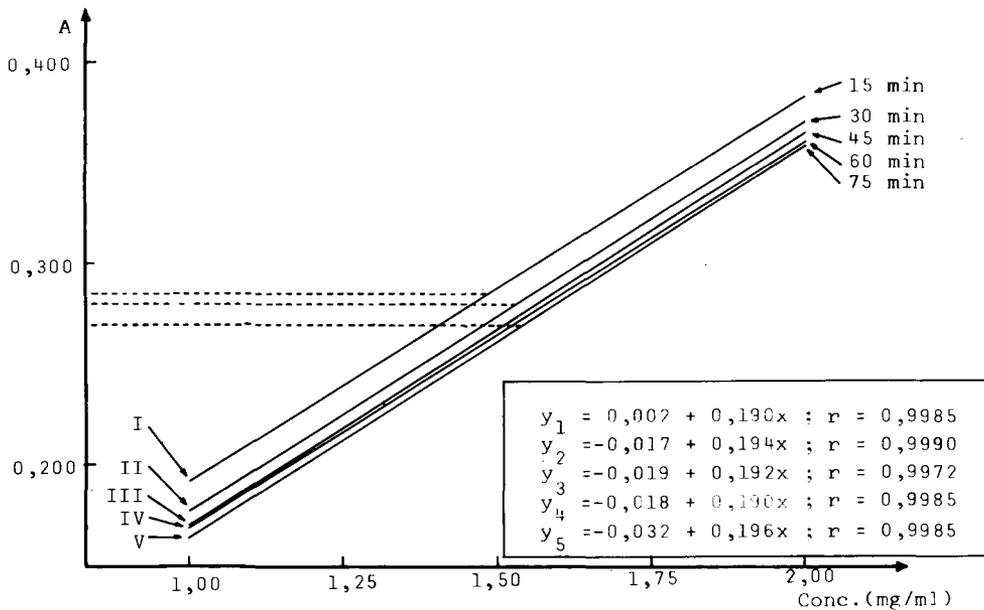


FIG. 2 – Representação gráfica das curvas padrão de norfloxacino, pelo método espectrofotométrico do reativo de Marquis, nos tempos 15, 30, 45, 60 e 75 min, respectivamente, para as curvas I, II, III, IV e V.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo, através da espectrofotometria, utilizando o reativo de Marquis como reagente, apresentou resultados compatíveis com os do método microbiológico.

Tanto a sensibilidade do método quanto a sua reprodutividade tornam possível a sua utilização para o doseamento de amostras recentes de norfloxacin, uma vez que se tenha o respectivo padrão.

O ensaio da estabilidade do composto formado mostrou que o mesmo permite a realização do ensaio. Neste trabalho, utilizou-se o tempo de leitura de 15 min, considerado suficiente para a adição do reativo de Marquis às soluções e as respectivas leituras das mesmas.

CONCLUSÕES

1. O método espectrofotométrico do reativo de Marquis mostrou-se adequado para o doseamento do norfloxacin, em amostras recentes, não diferindo, significativamente, do ensaio microbiológico de difusão em ágar (cilindros em placas), para $p=0,05$.

2. O tempo de leitura influi pouco nos valores de absorbância, mas não influi no resultado final do doseamento, desde que o tempo de leitura seja igual para o padrão e para a amostra.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração da bolsista Simone Bortolan no desenvolvimento dos trabalhos práticos.

Agradecemos à Merck, Sharp & Dohme pelo fornecimento do padrão, matéria-prima e produto acabado.

FRÖEHLICH, P. E. & SCAPOVAL, E. E. S. – Physical-chemistry assay method of norfloxacin: Spectrophotometric assay method with Marquis' reactive. *Rev. Ciênc. farm.*, São Paulo, **12**: 177-182, 1990.

ABSTRACT: The Marquis' reactive was used to standardize a spectrophotometric assay method for norfloxacin. The yellow lighth formed compound absorbs the visible region of the spectrum. The authors also analyzed the stability of the formed compound to set-up the time limits for the assay. The microbiological cylinder-plate assay method was used as a reference. The method showed to be sensible and reproductive.

KEY-WORDS: Norfloxacin; Marquis' reactive, spectrophotometric assay method.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FRÖEHLICH, P. E. & SCHAPOVAL, E. E. S. – Doseamento microbiológico do norfloxacina. Método da difusão em ágar (cilindros em placas). *Rev. Ciênc. farm.* 12, 1990.
2. GROENEVELD, A. J. N. & BROUWERS, J. R. B. J. – Quantitative determination of ofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin and perfloxacin in serum by high pressure liquid chromatography. *Pharmaceutisch Weekblad*, Scientific Ed. 8: 79-84, 1986.
3. KOROLKOVAŠ, A. *Análise farmacêutica*. Rio de Janeiro, Guanabara Dois, 1984. p. 162-166.
4. MOFFAT, A. C., ed. *Clarke's isolation and identification of drugs*. 2. ed. London, The Pharmaceutical Press, 1986. p. 139-40, 1170.
5. PAULIUKONIS, L. T. *et alii* – Quantitation of norfloxacin, a new antibacterial agent in human plasma and urine by ion-pair reverse-phase chromatography. *J. pharm. Sci.*, 73: 99-102, 1984.

Recebido em 18.01.89